

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN(11)Publication number : **2001-139476**(43)Date of publication of application : **22.05.2001**

(51)Int.Cl.

**A61K 31/765
A61P 35/00**(21)Application number : **11-359603**(71)Applicant : **NAGANUSHI YOUICHIROU**(22)Date of filing : **15.11.1999**(72)Inventor : **NAGANUSHI YOUICHIROU
AIZAWA MAKOTO
NAGANUSHI MASAYA
IMANISHI YOSHIO****(54) ANTI-MALIGNANT TUMOR AGENT TO BE USED FOR MALIGNANT NEOPLASM INCLUDING CANCER****(57)Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an anti-malignant tumor agent high in biocompatibility, capable of showing anti-tumor effect even if administered orally, and to be used for dealing with malignant neoplasm including cancer of mammals including humans.

SOLUTION: This anti-malignant tumor agent is obtained by the following process: L-lactic acid is subjected to dehydrocondensation in an nitrogen atmosphere by stepwise pressure reduction and temperature rise to produce a reaction liquid, from which both ethanol and methanol solubles are dried under reduced pressures and then subjected to reversed-phase ODS column chromatography followed by elution with a 25-50% acetonitrile aqueous solution of pH 2.0 and then with 100% acetonitrile of pH 2.0 to obtain a mixed poly-L-lactic acid as both cyclic and straight-chain oligomeric substances 9-19 in degree of condensation.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

08.05.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of

BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-139476

(P2001-139476A)

(43) 公開日 平成13年5月22日 (2001.5.22)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

ターム(参考)

A 6 1 K 31/765

A 6 1 K 31/765

4 C 0 8 6

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/00

審査請求 未請求 請求項の数1 書面 (全 9 頁)

(21) 出願番号

特願平11-359603

(22) 出願日

平成11年11月15日 (1999.11.15)

(71) 出願人 596038401

長主 陽一朗

福岡県田川郡川崎町田原1121番地

(72) 発明者 長主 陽一朗

福岡県田川郡川崎町田原1121

(72) 発明者 相沢 信

東京都練馬区豊玉上2-46

(72) 発明者 長主 正也

東京都葛飾区亀有1-22-9

(72) 発明者 今西 嘉男

神奈川県足柄下郡湯河原宮下699-45

Fターム(参考) 4C086 A4D1 A4D2 A4D4 F4D2 N414

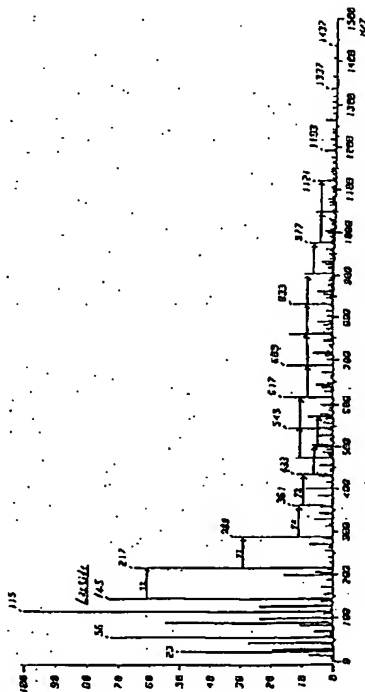
ZB26

(54) 【発明の名称】 癌を含めた悪性新生物に用いる抗悪性腫瘍剤

(57) 【要約】

【課題】 生体適合性が高く、経口投与においても抗腫瘍効果が認められるヒトを含む哺乳動物の癌を含む悪性新生物に用いる抗悪性腫瘍剤を提供すること。

【解決手段】 L-乳酸を窒素ガス雰囲気中で段階的減圧および昇温により脱水縮合して得た反応液から、エタノールおよびメタノール可溶成分を減圧乾燥した後、逆相ODSカラムクロマトグラフィーを行い、pH2.0の25~50%アセトニトリル水溶液で溶離した後、pH2.0の100%アセトニトリルで溶離して得られる縮合度9~19の環状および直鎖型のオリゴマー物質である混合ポリL-乳酸からなる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 L(十)ー乳酸を窒素ガス雰囲気中で段階的減圧および昇温により脱水縮合し、得られた反応液のエタノールおよびメタノール可溶成分を減圧乾燥した後、逆相ODSカラムクロマトグラフィーを行い、pH2.0の25～50%アセトニトリル水溶液で溶離後、pH2.0の100%アセトニトリルで溶離した画分である縮合度9～19の環状型および直鎖型のオリゴマー物質である混合ポリー乳酸からなる癌を含めた悪性新生物に用いる抗悪性腫瘍剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ヒトを含む哺乳動物の癌を含む悪性新生物に用いる抗悪性腫瘍剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来、悪性新生物に対する治療法としては、移植を含めた外科的治療法、化学療法、および放射線療法が三大療法として行われてきたが、未だ十分な成果を上げるに至っていない。殊に、化学療法に関しては、総じてもともと作用が強いことに加え、長期間服用されることが多いことより極めて強い副作用が発現し、近年では抗腫瘍剤による二次発癌も問題となっている。

【0003】また、腫瘍の種類によっては未だに有効な薬剤も開発されていないのが現状である。このため副作用を抑え、抗腫瘍効果を高める目的で多剤併用療法の試みが行われているが、これら問題を解決するに至っていない。また、新しい免疫療法、遺伝子治療法の開発が進められているが研究段階であり、これら療法の早期実現が期待されている。

【0004】一方、薬剤の投与経路については、多くの薬剤は血管内投与の方法で行われており、有効性の高い経口用の抗腫瘍剤はわずかである。すなわち化学療法を行うにおいては、血管内投与という使用法の制限からも通常入院管理下において行われており、患者の精神的問題や長期入院がもたらす経済的負担、社会復帰等が大きな問題になっており、経口剤のような外来管理の可能な、かつ有効な抗腫瘍剤の開発が待ち望まれている。

【0005】ところで、Lー乳酸を常圧または減圧下で窒素ガス等の不活性ガスの雰囲気中で加熱し、得られた反応液をメタノールまたはエタノールに熱時溶解後、濾過し、濾液を減圧乾燥後アセトニトリルに溶解するか、または直接アセトニトリルに溶解した溶液を、予めpH2～3の25%アセトニトリル水溶液で平衡化しておいた逆相性ODSまたはDSカラムでクロマトグラフィーを行い、pH2～3の30～50%アセトニトリル水溶液で溶離後、pH2～3の70%以上のアセトニトリル濃度の水溶液で溶離した画分であり、縮合度が5～23のLー乳酸直鎖状縮合物と縮合度が9～19のLー乳酸環状縮合物との混合物よりなる人を含む動物の悪性腫瘍

細胞増殖抑制剤が特開平5-310581号公報に提案されている。

【0006】この抑制剤は、ヒト子宮頸部癌株細胞、ヒト鼻咽頭癌株細胞、ヒト口腔底癌株細胞、マウス肺癌細胞、ウサギ肝癌由来株細胞、吉田肉腫、ヒト胃癌、甲状腺癌、肺癌および子宮癌に対するものであった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明者は、縮合度9～19のポリー乳酸が、悪性腫瘍細胞において正常細胞に比較して著しく亢進している解糖系活性を阻害することを主たる作用機序として、大腸癌、食道癌、および乳癌に対して強い抗腫瘍細胞増殖抑制作用を示し、さらに悪性腫瘍に随伴する癌性疼痛の緩和を含む顕著な体質改善作用を有することを発見した。

【0008】本発明は、このような新たな特徴的効果の見いだされた縮合度9～19のLー乳酸オリゴマーを、ヒトを含む哺乳動物の抗悪性腫瘍剤として提供することを目的とするものである。これは、悪性腫瘍の治療や発生予防等の場面で状況に応じて経口および非経口的投与法の選択、また最大効果を上げるための既存の抗腫瘍療法との併用療法が含まれ、従来の悪性腫瘍に対する治療方法の拡大、治療効果の向上に資するものである。

【0009】

【課題を解決するための手段】上記の目的の達成のため、本発明の抗悪性腫瘍剤は、Lー乳酸を窒素ガス雰囲気中で段階的減圧および昇温により脱水縮合し、得られた反応液のエタノールおよびメタノール可溶成分を減圧乾燥した後、逆相ODSカラムクロマトグラフィーを行い、pH2.0の25～50%アセトニトリル水溶液で溶解後、pH2.0の100%アセトニトリルで溶解した画分である縮合度9～19の環状および縮合度5～23の直鎖状の混合Lー乳酸オリゴマーを成分とし、癌を含めた悪性新生物に対する抗腫瘍剤として利用するものである。

【0010】

【発明の実施の形態】実際の使用に供するために、縮合度9～19のLー乳酸オリゴマーを分離精製してアルカリ中和した後、減圧乾燥したものを原粉末とし、これを所定の濃度となるように適切な溶媒に無菌的に溶解または懸濁して注射用製剤とする。経口剤として使用する場合は、前記同様に処理した原粉末をそのままの状態でも使用可能であるが、本物質の特性を考慮し、通常は安定化剤、たとえば乳酸カルシウム、炭酸カルシウム、マンニトール、ソルビトール等が添加される。また、他の薬理作用物質との混合物として組成された状態でも投与可能である。剤型も散剤、顆粒、錠剤、糖衣錠、カプセル、懸濁剤、乳剤などの形態に製剤化できる。

【0011】

【実施例】以下、本発明の具体例として、若干の実施例を述べるが本発明はこれら実施例に限定されるものでな

い。

製造例

マントルヒーターに収めたセパラブルフラスコに、L-乳酸500mlを入れ、窒素ガス500ml/分の流入および攪拌を行い、溜出水を環流冷却器付フラスコに導きながら、145℃になるまで3時間加熱して遊離水を溜去し、次いで、20kPaで減圧して3時間加熱した後、0.7kPaで3時間加熱して170℃まで昇温し、最後に190℃になるまで1.5時間加熱し反応生成物であるL-乳酸オリゴマーを得た。

【0012】得られたL-乳酸オリゴマーは100℃に保ち、エタノール100mlに続いてメタノール400mlをそれぞれ滴下した後放冷し、これをさらにメタノール500ml中に加え、よく攪拌して静置した後濾過

L-乳酸オリゴマーの環状型、鎖状型の存在比

して精製し、その濾液を減圧乾燥してアセトニトリルに溶解し、全量を200ml(原液)とした。この原液を、予め平衡化した逆相ODSカラム(TSKゲルODS-80TM)にかけ、0.01mol塩酸を含む30%、50%および100%アセトニトリル(PH2.0)でステップワイズに溶離し、100%溶出画分であるL-乳酸オリゴマー(縮合度9~19)を得た。

【0013】L-乳酸オリゴマーの質量分析結果を図1に示す。図1に示すように、合成されたL-乳酸オリゴマーは、環状型と鎖状型が約7:3の割合で含まれ、重合度Zが23までの縮重合物である。L-乳酸オリゴマーの環状型、鎖状型の存在比を表1に示す。

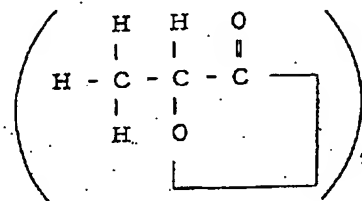
【表1】

重合度 Z	1/10(%)		存在比(%)
	環状型	鎖状型	
Z=2	100	60	63:37
Z=3	100	43	70:30
Z=4	91	21	81:19
Z=5	45	15	64:36
Z=6	44	17	71:29
Z=7	25	4	86:14
Z=8	15	3	83:17

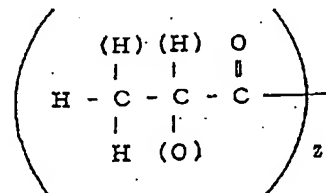
また、環状型および直鎖型縮合物の化学構造式を化1に示す。

【化1】

CR型構造 ($C_3H_4O_2$)_z



OC型構造 ($C_3H_4O_2$)_z - H₂O



【0014】環状および鎖状の両者の間には、一種の可逆平衡関係が成立しており、L-乳酸オリゴマーの生物

活性の多様性や縮合度の異なる各分画の複合によって抗腫瘍効果が発現している等の事実にも照らしてみても、環状および鎖状の縮合体を相互分離して利用することの意義は乏しい。

【0015】このことから、本発明者は、本物質を環状ポリ乳酸 (Cyclic Poly-lactate; CPL) と命名した。CPL分子は、コンピューターモデルを用いた分子動力学のエネルギー計算に基づくと、低重合度では中空のジグザグ閉鎖環状リング構造を示しているが (図2)、高重合度では閉鎖系長楕円形リングがC字型のように曲がっているジグザグ構造を示し (図3)、環状と鎖状の両特性を有している。鎖状型オリゴマー分子は、鎖状に連結して伸びたり固まったりする二次元方向に連結する構造を示す。

【0016】製剤例1

L-乳酸オリゴマー (CPL) を $1\text{ mol}/\text{m}^3$ 水酸化ナトリウムで中和処理し、減圧乾燥したものを $100\text{ mg}/\text{ml}$ 濃度になるように $70\sim 80^\circ\text{C}$ の局方プロピレングリコールに溶解し、 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ フィルターで濾過滅菌した後、バイアル瓶に 15 ml ずつ無菌的に分注、

【0017】製剤例2

上記と同様に、L-乳酸オリゴマー (CPL) を $1\text{ mol}/\text{m}^3$ ナトリウムで中和処理し減圧乾燥したものを $18\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度になるように $70\sim 80^\circ\text{C}$ の局方プロピレングリコールに溶解し、 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ フィルターで濾過滅菌した後、バイアル瓶に 15 ml ずつ無菌的に分注、

CPL 投与前後における主要項目の測定結果

主要な測定項目	開始前	15日間点滴静注後
体重 (kg)	13.0~16.0	15.0~17.5
赤血球数 (万/立方mm)	497~523	453~483
ヘモグロビン量 (g/dl)	12.8~13.0	13.1~13.9
白血球数 (千/立方mm)	9.1~12.8	10.6~11.3
血小板数 (万/立方mm)	14.3~15.6	10.5~11.3
GPT活性 (U/l)	15~23	17~26
GOT活性 (U/l)	29~45	24~43
BUN量 (mg/dl)	14~32	14~17

【0020】毒性試験3

経口投与による安全性の確認のため、雌雄のICR系マウスにCPLを $2000\text{ mg}/\text{Kg}$ 単回経口投与し、2週間観察した。投与後の異常症状および死亡の発生はなく、体重も溶媒対照群と同様の推移が認められた。また病理学的にも、肉眼的および組織学的に異常所見は認められなかった。

【0021】in vitroでの悪性腫瘍細胞増殖に対する影響1

ヒト胃癌細胞AZ521および結腸癌細胞DLD1にCPLを添加して培養し、24時間、72時間後の両者細胞増殖に対する影響を、MTT法を用いて測定した。その結果、培養72時間後には、 $1.9\text{ mg}/\text{ml}$ CPL

0.0 g に、ソルビトール 500 g および炭酸カルシウム 200 g を加え、固化後粉碎して微粉末とし、無菌的に充填し経口用散剤を調製した。

【0018】毒性試験1

CPLの安全性の確認のため、雄性ICR系マウスに $15, 30$ および $60\text{ mg}/\text{Kg}$ を14日間連日静脈内投与を行った。いずれの投与群も投与期間中およびその後の観察期間中における死亡例はなく、運動協調性、排便、排尿を含む行動および身体状態の変化は認められず、体重も順調に推移し、投与期間中の体重増加量は、溶媒対照群の 14.6 g に対して低、中および高用量群では $14.4\sim 14.9\text{ g}$ の範囲であった。

【0019】毒性試験2

ヒトでの臨床適応を想定して、犬2匹にCPLの $49\text{ mg}/\text{Kg}$ を15日間連日点滴静注 ($60\text{ 滴}/\text{分}$) し、その安全性を評価した。投与期間中およびその後の観察期間中の異常症状および死亡はなく、体温、心拍数等の身体状態も正常であった。血液学的検査値も正常範囲内で、貧血、炎症、肝機能、腎機能障害を示唆する所見を認めず、病理学的にも各臓器において、肉眼的また組織学的にも異常は認められなかった。CPL投与前後における主要項目の測定結果を表2に示す。

【表2】

添加により、対照に比較してAZ251は 48% 、DLD1は 47% に、 $7.5\text{ mg}/\text{ml}$ CPL添加により、AZ251は 7% 、DLD1は 12% と有意の増殖抑制が観察された。

【0022】in vitroでの悪性腫瘍細胞増殖に対する影響2

ヒト白血病細胞HL60およびTF-1にCPLを添加して培養し、培養10日目までトリパンブルーを用いて生細胞数を測定し、両者細胞増殖に対する影響を観察した。CPL $0.2\text{ mg}/\text{ml}$ 添加により両者細胞ともに培養1日目より有意の増殖抑制が観察された。

【0023】さらに抽出したDNAは電気泳動法で断片化が確認され、またモノクローナル抗体Ap02.7

(2. 7A6A3 clone)を用いた検討で7A6抗原の発現が認められ、CPLの抗腫瘍細胞増殖抑制は、アポトーシス誘導を介した機序が関与していることが示唆された。図4にフローサイトメトリーで測定したCPL添加培養後のT F-1細胞の7A6抗原発現を示す。

【0024】悪性腫瘍細胞のエネルギー代謝に及ぼす影響

活発に増殖する腫瘍細胞では、大量のエネルギー供給を維持するためにその多くを嫌氣的解糖系に依存している。そこで嫌氣的解糖系の鍵酵素であるピルビン酸キナーゼ(PK)および乳酸脱水素酵素(LDH)活性に対するCPLの影響を測定した。図5、6に示すようにCPLはマウス乳癌由来FM3A腹水細胞のPKおよびLDH活性を有意に抑制し、50%活性阻害濃度は、PKでは4mg/ml、LDHは2.5mg/mlであった。一方、嫌氣的解糖系の測定では、CPL8mg/ml添加により、乳酸生成量は対照の50%に低下が観察された。

【0025】in vivoでの悪性腫瘍細胞への影響
VX2癌に対するCPLの増殖抑制効果

投与経路	群	動物 番号	腫瘍サイズ ¹⁾		増殖率 ²⁾	腫瘍壊死率 ³⁾
			投与前	投与後		
静脈内 (IV)	対照 5%糖液	1	225	550	2.44	<10%
		2	255	572	2.24	<10%
		3	350	440	1.22	<10%
	CPL 15mg/kg	4	270	432	1.60	<10%
		5	360	345	0.96(縮小)	<10%
		6	180	600	3.33	<10%
	Adriamycin 0.5mg/kg	7	180	285	1.59	<10%
		8	300	280	0.93(縮小)	<10%
		9	342	391	1.14	<10%
肝動脈内 (TAI)	CPL 6mg/匹	10	150	120	0.80(縮小)	完全壊死
		11	270	104	0.39(縮小)	完全壊死
		12	340	264	0.78(縮小)	完全壊死
	Adriamycin 6mg/匹	13	180	180	1.00	>90%
		14	270	-	(死亡)	-
		15	270	330	1.22	完全壊死

1) 縦×横(mm²)

2) 投与後の癌の大きさ
投与前の癌の大きさ

3) 病理組織学的判定

表3に示すように経静脈的投与あるいは肝動脈内投与いずれにおいても対照群に比較して有意の、また、ADM投与群と同様の腫瘍増殖抑制効果が認められた。また、病理組織学的には腫瘍の壊死性変化を認めている。

【0027】担癌マウスの生存期間に及ぼすCPLの効果

FM3A細胞を腹腔内移植(2×10⁶細胞/匹)したマウスに対し、移植の翌日よりCPL4mg/匹を腹腔内投与し、担癌マウス生存期間に及ぼすCPLの効果を観察した。その結果、無処置群の50%生存期間は16日であり、癌細胞移植後17日で全てのマウスが死亡した。溶媒を投与した対照群の生存期間は、無処置群と有意の差は認めない。CPL投与群の50%生存期間は、31日と有意の生存期間の延長を認めた。

1

FM3A細胞を腹腔内移植(2×10⁶細胞/匹)したマウスに対し、移植の翌日よりCPL4mg/匹を腹腔内投与し、経時的に腹水内の癌細胞数を測定した。対照群では移植12日後には癌細胞数は78.1±13.4×10⁷個に増加が認められたが、CPL投与群では20.2±3.8×10⁷個と約25%に減少が観察された。細胞形態学的には、細胞質突起の消失、核クロマチンの減少等の変化が観察された。

【0026】in vivoでの悪性腫瘍細胞への影響
2

ペントバルビタール麻酔下に開腹し、肝臓内に扁平上皮癌細胞VX2を移植したNew Zealand White雄ウサギに対し、経静脈的あるいは肝動脈に直接CPLまたは抗癌剤アドリアマイシン(ADM)を投与し、腫瘍サイズを測定し比較検討した。VX2癌に対するCPLの増殖抑制効果を表3に示す。

【表3】

【0028】発癌予防に対するCPLの効果

遺伝子組み換え技術により癌抑制遺伝子p53を欠損した5週齢C57BL系マウスにCPL50mg/Kgを3回/週、20週にわたり経口投与し、癌発生率および死亡率を評価した。本マウスは、悪性リンパ腫、血管肉腫、骨肉腫、精巣腫瘍など広範囲の悪性腫瘍が約10週齢から発生しはじめ、6か月齢で約70%に悪性腫瘍が発生することが報告されている。

【0029】対照群では8週目より悪性腫瘍による死亡が認められ、20週後の生存は10例中1例(10%)のみであった。CPL投与群では20週後の生存率は10例中5例(50%)であった。病理学的には死亡したすべてのマウスで悪性腫瘍発生を認めており、発生した悪性腫瘍の種類、分布等については対照群、CPL投与

群で有意の差は認めなかった。

【0030】 担癌マウスの免疫活性に対するCPLの効果

悪性黒色種細胞B16を経静脈的に移植したC57BL系マウスに対し、移植後より7日間CPLを経口(500mg/Kg)または経静脈(10mg/Kg)投与

B16 悪性黒色種担癌マウスのNK活性におよぼすCPLの効果

群	投与0日	投与7日
対照	15.0±3.7	4.9±3.9
500 mg/kg, p.o.	12.5±2.9	7.4±10.6
10 mg/kg, i.v.	13.2±1.9	15.7±3.2**

Effector cell/Target cell=100/1

数値はNK活性(%)±S.D. 対照群との間に有意差あり: ** P<0.01

表4に示すように、対照群では7日後のNK活性は約30%に低下したが、CPL投与群ではNK活性の低下は認められなかった。また同時に行った病理学的検討でも、肺に出現した腫瘍コロニー数も対照群に比較して減少が認められた。

【0031】 CPLの鎮痛効果

5週齢d Y系マウスに用いて、酢酸により誘発される疼痛(苦悶)反応に対するCPLの効果について評価した。CPLは、酢酸投与前3時間および1時間前に2回経口投与(500mg/Kg)するか、1時間前に1回皮下注射(50mg/Kg)し、0.7%酢酸を腹腔内注射後の疼痛(苦悶)反応数を測定した。CPL前投与により疼痛(苦悶)反応数の減少を認め、特に皮下注射群では対照群の52%まで減少を認めた。

【0032】 点滴による静脈内投与による臨床治療効果
手術不能の末期癌、術後の残遺癌や転移癌、再発癌と診断された約50名の重度の癌患者を対象に、患者および家族の同意および要請にもとづいて、製剤例1で調整したCPLの点滴による静脈内投与による抗癌治療を実施した。標準療法は、CPL200mg/ヒト/日の20日間の点滴静注を1クールとした。点滴用製剤は、当該注射剤20mlをブドウ糖液、生理食塩水などの輸液製剤500mlに混合溶解し、3時間をかけて投与した。

【0033】 CPL注射剤により治療した各種の原発癌のうち、大腸癌、食道癌、および乳癌に対して最も顕著な増殖抑制効果が認められ、また、これら癌の再発あるいは転移病巣においても増殖抑制効果が認められた。特に、外科的摘除術あるいは放射線療法による治療直後の癌患者(約14名)に認めた残遺癌に対しては、著明な抗癌効果が認められ、患者の約80%で改善が確認され、このうち8名においては臨床的にほぼ治癒状態と判断された。

【0034】 本注射剤投与により、抗腫瘍効果のみならず、栄養状態の改善、倦怠感等の自覚症状の改善、さらに放射線療法や抗癌剤治療の副作用である白血球減少、貧血や肝機能障害の早期回復も認められ、これら結果は、CPLを既存の抗癌治療法と併用することにより、

し、投与開始時と終了時にNK活性(ナチュラルキラー細胞の癌細胞傷害活性)を測定した。B16悪性黒色種担癌マウスのNK活性におよぼすCPLの効果を表4に示す。

【表4】

より高い抗癌効果が期待できることを示唆するものと考えられる。

【0035】 標準的投与方法において、副作用として初回の点滴静注時に一過性の発熱が出現した症例も認められたが、発熱の程度は軽度であり、コハク酸デヒドロコチゾン1.00mg~2.00mg/回の併用により速やかな改善を認めている。また、標準投与量の2倍に相当する2000mg×2回/日の点滴投与を行った場合でも、連続3か月の連日投与を行った場合でも上記以外の副作用は認めていない。

【0036】 症例1: 大腸癌

脾臓への浸潤および癒着を伴う横行結腸癌があり、外科的切除術およびバイパス手術を施行したものの、完全切除ができず残遺癌の見られた60歳の男性に、約2年間にわたり標準療法による本注射剤の点滴静注を行った。その結果、X線や超音波エコー検査にて癌の増殖抑制が認められ、さらに転移および再発抑制効果が認められた。また、治療開始後約3~10日の時点で疼痛、倦怠感、易疲労感、悪心等の自覚所見の改善、食欲回復および体重増加と栄養状態の改善も認め、心理的不安、精神荒廃状態からも開放され生活活動性の向上が認められている。

【0037】 症例2: 大腸癌の肺転移癌

大腸癌の外科的切除後、肺への多発性の癌転移が出現し、無気肺所見を認め予後約3~4か月と診断された60歳の男性に、標準療法による本剤の点滴静注を行った。画像診断的には肺における癌病変は残存するものの、約3年間の治療期間を通じて肺機能は極めて良好で、癌病巣の拡大、他臓器への転移も認めず、著しい延命効果が認められた。本症例でも食欲、栄養状態の改善、また疼痛等の自覚的所見は認めず、生活活動性は良好状態であった。

【0038】 症例3: 食道癌

食道癌の診断で外科的切除術を受けた50歳の男性で、術後17か月に食欲不振、嚥下困難と共に吐血を認め、内視鏡検査により吻合部に再発性食道癌および狭窄所見の認められた患者に、標準療法による点滴静注を行っ

た。治療開始10日後には摂食可能となり、内視鏡検査では癌の縮小と狭窄部の再疎通が確認された。その後の経過観察においても良好な状態を維持している。

【0039】症例4：乳癌

乳癌の術後3年目に寛骨および肋骨の疼痛が出現し、骨シンチグラムで転移癌の診断を受けた42歳の女性に標準療法による点滴静注を行った、本患者は、転移癌の診断後4か月にわたり化学療法を受けており、本剤投与開始時点では、白血球数の減少($2900/\mu\text{l}$)、貧血(赤血球 $384\text{万}/\mu\text{l}$ 、ヘモグロビン値 $10.7\text{g}/\text{dl}$)および肝機能障害(ALT値 $102\text{IU}/\text{l}$)が認められた。

【0040】投与開始4日目に白血球数は $8100/\mu\text{l}$ に、肝機能はALT値 $21\text{IU}/\text{l}$ に改善が認められ、7日目には倦怠感、胸痛および骨痛等の自覚的所見も消失した。1ケールの点滴投与終了後、2年後の時点でも自覚症状はなく、癌の進行も認められずに経過している。

【0041】婦人科系の癌に対しては、本注射剤は比較的高い効果を示し、長期生存または著効例が多い。また多くの乳癌患者において点滴静注時に癌局所の違和感を訴えたことより、癌病変に対する直接的作用が窺われ、選択的動脈内投与等の癌局所への投与法は本剤の有用な適用法の一つであると考えられる。

【0042】本剤投与症例において、糖および脂質代謝異常に対する効果として、合併した糖尿病、高脂血症の改善を認める症例が確認された。これら作用は、前述の肝機能改善効果等と併せ、悪性腫瘍治療において有利に作用していることが考えられる。また、点滴静注と製剤例2で調製した経口用散剤との併用は、本注射剤による効果の増強と維持に有用であることが確認された。

【0043】経口投与による臨床治療効果

CPLの経口投与として、製剤例2で調製した散剤を、 $6\sim10\text{g}/\text{日}$ を3回に分けて服用を基本とし、症状に応じて適宜用量、用法を変更し、処方した。上述の静脈内投与と同様に抗腫瘍効果を認め、ことに在宅、通院条件下で管理可能なことより、患者の精神的、経済的負担の軽減に寄与する結果が得られた。また、副作用としては、服用初期において腹満感が認められたが、経過と共に症状は無処置で消失している。その他自覚的、他覚的に異常は認められていない。

【0044】症例1：肺癌(adenocarcinoma)のため左上葉切除術を受けた後、2年後に癌性胸膜炎および心炎で再発を認めた66歳の男性に対し、5FUの全身投与および胸腔および心臓穿刺によるドレナージ時にシスプラチンの胸腔内、心臓内投与が開始されたが、液貯留は改善せず、これに伴う呼吸困難のため、ほぼ連日の排液を必要とした。

【0045】処置開始2週間後よりCPLを $6\text{g}/\text{日}$ で経口投与を開始した。液貯留は、徐々に減少し、約6か

月後には胸腔内、心臓内への液の貯留は全く認めなくなり、その後も経過は良好である。この際再発時に認められた食欲不振、全身倦怠感、悪心、嘔吐等の症状はCPL服用後より改善し、服用約2週間後にはほぼ改善を認めている。

【0046】症例2：黄疸、食欲不振、上腹部違和感の自覚後、膵臓癌と診断され、UFT投与および放射線療法を施行中の69歳の男性に対し、抗癌療法開始と平行してCPLの経口投与を開始した。服用約1週間後頃より食欲が回復し、さらに2週間には黄疸を含め自覚症状の改善を認めている。上記症例のように、CPLの経口投与においても静脈内投与と同様に抗腫瘍効果が認められ、さらに食欲の改善等自覚所見の改善にも効果が認められている。

【0047】

【発明の効果】本発明は、縮合度9~19のポリ-L-乳酸(CPL)が悪性腫瘍に対して優れた増殖抑制を示すと共に、これら腫瘍の再発、転移を抑制し、注射用製剤、経口用製剤ともにこれら悪性腫瘍に対する有効な治療法になりうることを示している。この効果は、in vitroにおいても、またin vivoにおいても有効性が確認された。

【0048】CPLは、生体成分に由来するL-乳酸の低縮合体であることより生体適合性は極めて高く、最も過酷な血管内投与でも副作用はほとんど認めないこと、また経口投与においても抗腫瘍効果が認められることが大きな特徴である。すなわち、病期を含めた症例の状態に合わせて投与方法の選択が可能であり、また組み合わせによる効果の維持、増強が期待できるものである。

【0049】さらに、既存の抗腫瘍療法との併用により最大の治療効果が期待できると同時に、白血球減少や肝機能障害等の既存の抗腫瘍療法による副作用の軽減を可能とするものである。また、長期間の継続的摂取を安全かつ容易ならしめるものであり、実験的に示唆された発癌予防にも供し得ると考えられる。

【0050】CPLの抗腫瘍効果は、増殖速度の大きい腫瘍細胞は正常細胞と異なり代謝活性あるいはエネルギー要求性が極めて高く、これを維持するために解糖能に強く依存しているが、CPLがこのような腫瘍細胞の嫌氣的解糖系を抑制することによって腫瘍細胞増殖抑制効果を発揮しうることが判明した。特に、嫌氣的解糖系の鍵酵素であるピルビン酸キナーゼおよび乳酸脱水素酵素活性に対する抑制が強く認められ、CPLの作用本態の一つである可能性が示唆された。

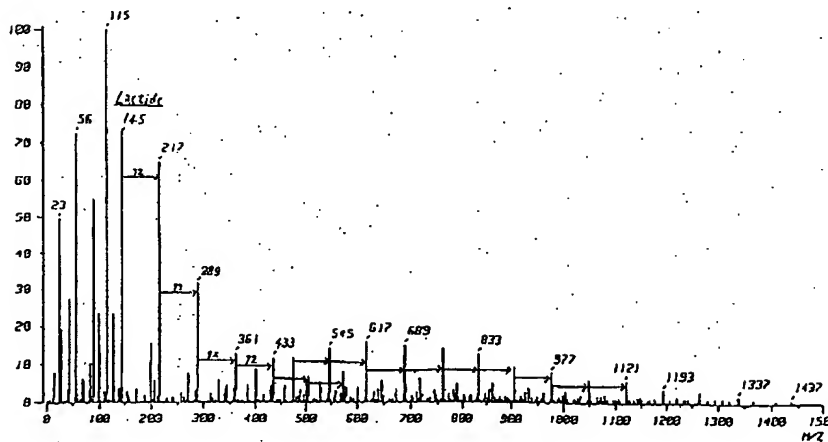
【0051】この抑制作用の結果、CPLが腫瘍細胞のアポトーシスを誘導していることが観察されている。さらに、CPLの作用として、NK細胞の活性化による免疫賦活作用、脂質代謝を介した肝機能および消化機能の改善作用が認められている。これら多様なCPLの作用ゆえに、強力な細胞傷害作用を示す既存の抗悪性腫瘍

剤とは異なり、CPLが重篤な副作用を伴わずに比較的広い抗癌スペクトルを示す一因となっているものと推察される。

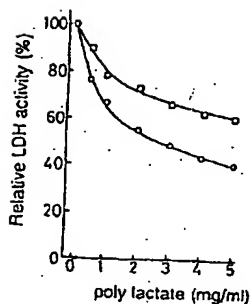
【0052】臨床経験では、抗腫瘍効果に加えて食欲不振や体重減少を含む栄養不良や、貧血、疼痛、倦怠感等の身体症状ならびに精神的、肉体的介助を必要とする生活活動性の低下に対して優れた改善効果のあることが判明した。ことに担癌患者における免疫能の低下、悪液質を含めて栄養障害の改善に有用であったことは本剤の重要な効果として挙げられ、悪性腫瘍患者に限らず、他疾患患者の同様の症状に対してもその効果が期待できるものである。

【0053】このように、CPLは単に抗腫瘍効果のみならず、悪性腫瘍の随伴症状を改善する作用を併有し、患者の生活の質（QOL）の向上を図るための有効な手段になることを示しており、総合的にみて従来の抗悪性腫瘍剤に比較して、新たな可能性を持った薬剤と言える。

【図1】



【図6】



【図面の簡単な説明】

【図1】 L-乳酸オリゴマーの質量分析結果を示す。

【図2】 L-乳酸オリゴマーの低重合度での分子構造モデルを示す。

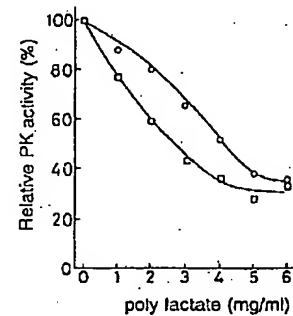
【図3】 L-乳酸オリゴマーの高重合度での分子構造モデルを示す。

【図4】 CPL添加培養後24時間におけるTF-1細胞の7A6抗原の発現を示す。

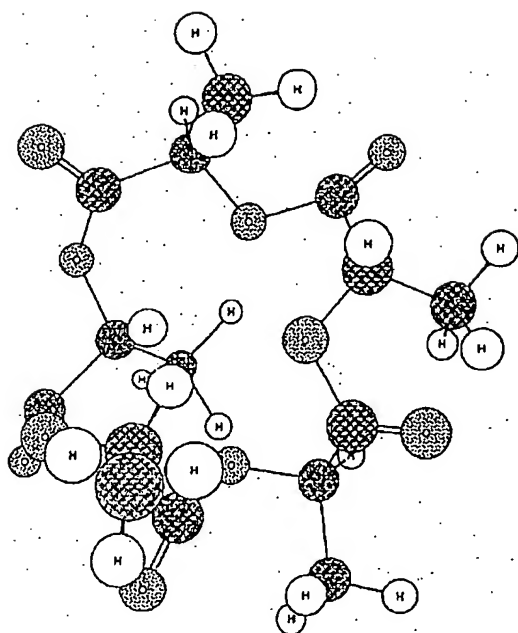
【図5】 ビルビン酸キナーゼ（PK）活性におよぼすCPLの効果を示す。FM3A細胞由来のPK活性（○）、および正常ウサギ筋肉由来のPK活性（□）に対するCPLの影響を、CPL非添加時を100とした相対活性で示した。

【図6】 乳酸脱水素酵素（LDH）活性におよぼすCPLの効果を示す。FM3A細胞由来のLDH活性（○）および正常ウサギ筋肉由来のLDH活性（□）に対するCPLの影響を、CPL非添加時を100とした相対活性で示した。

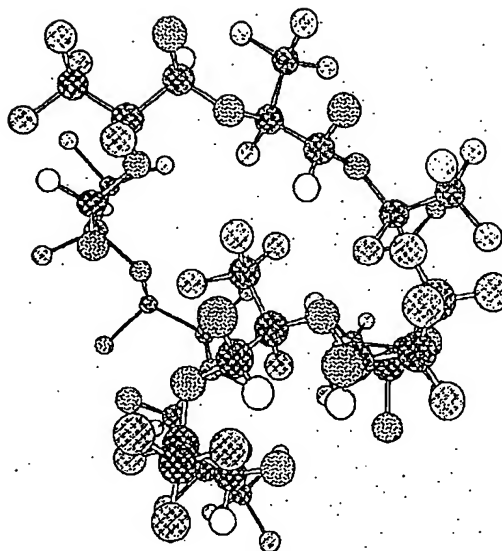
【図5】



【図2】



【図3】



【図4】

